

## STRESUL OXIDATIV ÎN PANCREATITA CRONICĂ

Rodica Bugai – asist. univ.,  
IP USMF „Nicolae Testemițanu” Disciplina de Medicină Internă,  
Departamentul de Medicină Internă

### Rezumat

Stresul oxidativ (SO) este o verigă patogencă importantă pentru ființa umană. În ultimii ani o atenție deosebită se acordă SO, dată fiind atât larga sa incidență, cât și efectele dramatice produse asupra organismelor vii, iar pancreatita cronică (PC) este considerată o entitate care aparține bolilor produse de SO. Studiului au fost supuși 100 de pacienți cu PC și 100 de persoane sănătoase (grupul de control-GC), la care au fost studiați parametrii SO. Rezultatele au relevat o diferență statistic semnificativă ( $p < 0.001$ ) între pacienții cu PC și GC, exprimată prin creșterea indicilor peroxidării lipidice (POL) și scăderea activității sistemului antioxidant (SAO) la nivelul tuturor parametrilor SO; modificări mai semnificative au fost contestate la pacienții cu PC pseudotumorală.

**Cuvinte-cheie:** pancreatită cronică, stres oxidativ

### Summary. Oxidative stress in chronic pancreatitis

The oxidative stress (OS) is an important pathogenetic link of the human being. In the last years OS has been given special attention due to its large incidence, as well as its dramatic effects on living organisms, the CP being considered an entity which is part of the diseases caused by OS. A survey of 100 patients with chronic pancreatitis (CP), and 100 healthy individuals (control group- CG) revealed a statistically significant difference ( $p < 0.001$ ) between patients with CP and CG. It is expressed by high levels of lipid peroxidation (LPO) and reduced activity of antioxidant system (AOS) in all parameters. The most significant changes in the averages of LPO and AOS were seen in the patients with pseudotumoral pancreatitis.

**Key words:** chronic pancreatitis, oxidative stress

### Резюме. Оксидативный стресс при хроническом панкреатите

Оксидативный стресс (ОС), является важным патогенетическим звеном человеческого существа. В последние годы особенное внимание уделяется ОС, из-за его широкого распространения и трагического воздействия на живые организмы, а хронический панкреатит является одним из заболеваний вызванных ОС. В результате обследования 100 больных с хроническим панкреатитом (ХП) и 100 здоровых лиц (контрольная группа- КГ) было обнаружено статистически значимое различие ( $p < 0,001$ ) между пациентами с ХП и КГ, выраженной высокими показателями перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением активности антиоксидантной системы (АОС) по всем параметрам. Наиболее значимые изменения в средних показателях ПОЛ и АОС были замечены у пациентов с псевдотуморальным панкреатитом.

**Ключевые слова:** хронический панкреатит, оксидативный стресс

**Introducere:** Termenul de „stres oxidativ” a fost introdus de Sies în 1985 [10] și desemnează totalitatea leziunilor oxidative produse de radicalii liberi ai oxigenului, reprezintă dezechilibrul dintre pro-oxidanți și oxidanți, în favoarea primilor, ca urmare a acțiunii exagerate a agresorului” sau/și reducerii capacității de luptă a „apărătorului” [5]. Agenții responsabili de producerea SO sunt speciile reactive ale

oxigenului (SRO), care se pot grupa în: a) specii radical (superoxid, hidroxil, radicalul hidroxil, radicalul peroxid, oxidul nitric, alcoxil, hidroperoxid), b) specii neradical (peroxid, acid hipocloros, oxigenul singlet, ozonul, dioxigenul, peroxinitrit) [5,6]. În 1990 Basso și colab. au emis ipoteza hiperproducției SRO în PC. Formându-se în organism în exces, SRO declanșează reacții patologice, exprimate prin [13]: lezarea ADN,

ce interesează timina, citozina, adenina, guanina, dezoxiriboza, ca rezultat apar injurii celulare și mutații; inhibiția activității nucleotid-coenzimei, modificări în starea redox a NADPH; perturbarea enzimelor tiol-dependente; modificarea activității enzimelor și metabolismului lipidic; modificări ale glicoproteinelor (depolarizarea acidului hialuronic); modificări ale proteinelor: creșterea turnoverului, creșterea hidrofobicității, creșterea sensibilității la proteoliză, cross-linkajul și agregarea, fragmentarea; peroxidarea lipidelor, modificări în structura și funcțiile membranelor; alterarea proteinelor membranare și tulburări de transport prin membrană.

Antioxidanții sunt substanțe care au rolul de a menține un nivel constant și redus de radicali liberi în organism. Conform ipotezei SO în PC are loc blocarea metabolismului în celula acinară, fuzionarea granulelor zimogene și a lizosomilor și activarea intracelulară a enzimelor, se produce oxidarea lipidică a membranelor celulare, degenerarea mastocitelor, activarea trombocitelor, a celulelor proinflamatorii și sistemului complementar, creșterea activității citocromului P450, se modifică căile de semnalizare intracelulară [9].

Alcoolul, fiind unul din factorii de risc major în dezvoltarea PC induce SO prin metabolizarea sa pe cale oxidativă și non-oxidativă, generând acetaldehida și, respectiv, esterii grași ai acidului etilic (FAEEs). Acetaldehida provoacă afectare tisulară prin genotoxicitate, imunotoxicitate. Metabolizarea alcoolului în ficat cu ajutorul citocromului P450 2 E1 generează cu formarea de radicali liberi de oxigen, care pot iniția afectarea tisulară a pancreasului prin activarea factorului nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$ B) și creșterea nivelului de citochine proinflamatorii, activarea trombocitelor și sistemului complementar, activarea intracelulară a enzimelor. Există studii, care demonstrează că citocromul P450 2 E1 este de asemenea prezent și în pancreas și poate fi indus de consumul cronic de alcool. Consumul acut de alcool crește nivelul de compuși formați în rezultatul reacției radicalilor liberi cu componentele membranare - produsele peroxidării lipidice [3]. S-a demonstrat că radicalul peroxil  $RO_2^{\cdot}$  poate inactiva alcool-dehidrogenaza (Kittidje și Willson, 1984) sau antiproteinaza umană (Aruoma OI, 1994). În PC indusă de alcool se pot produce SRO și în rezultatul activării leucocitelor polimorfonucleare sau a fenomenului de ischemie/perfuzie. În această situație, ca antioxidanți intervin glutatión-peroxidaza seleniu-dependentă, care cuplează ionii metalici, și compușii neenzimatici (Vit. E, C,  $\beta$ -carotenul, bilirubina, acidul uric, cisteina și, glutatiónul redus). Seleniul plasmatic, în această situație, este redus ca rezultat al SO provocat de alcool.

Braganza ș.c., în 1993 au sugerat că SO în PC, produs la nivelul celulelor acinare se soldează cu hipersecreția de lactoferină și mucină, în rezultat se formează dopuri de proteine, care servesc ca „nuclee” pentru calcifierile intraductale.

Fumul de tutun este un aerosol extrem de complex, format din câteva mii de produse chimice distribuite între particulele gazoase și solide; substanțe organice, ce includ hidrocarburi saturate și nesaturate, alcooli, aldehyde, cetoni, acizi carboxilici, eteri, fenoli, nitriți, terpenoizi și alcaloizi (Baker 1999, Dube și Gree. 1982, Hoffmann ș. a. 2001). Componentele fumului de țigară cresc sarcina oxigenului, micșorează protecția antioxidantă sau rezultă în generarea de specii reactive de oxigen (SRO) și specii reactive de nitrogen [11,12].

SO în patogeneza PC este de origine multifactorială și necesită studiere, în vederea minimalizării efectului nociv și al tratamentului [7].

**Material și metode:** S-au studiat 100 de pacienți cu PC, inclusiv: PC dură cu recidive - 41, PC pseudotumoroasă - 21, PC latentă-38, b/f-55/45, vârsta medie -  $47,02 \pm 0,93$  ani (19-59 ani), iar 100 persoane practic sănătoase au constituit grupul de control (GC), b/f-56/44, vârsta medie- $23,23 \pm 0,49$  ani (19-39 ani). Diagnosticul de PC a fost stabilit conform criteriilor clinico-paraclinice specifice, activitatea sistemelor de peroxidare lipidică (POL) și antioxidant (SAO) a fost apreciată prin determinarea nivelului dienele conjugate, trienele conjugate, bazelor Shiff în fazele hexanică și izopropanolică, dialdehidei malonice (DAM) și, respectiv, a activității antioxidante totale (AAT) în fazele hexanică și izopropanolică, Superoxiddismutazei (SOD), Catalazei, Glutathionreductazei (GR), determinate în Laboratorul de Biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”, ca specimen fiind folosit sângele venos.

**Rezultate și discuții:** Evaluarea indicilor POL și a activității SAO (Tab. 1,2) a relevat modificări statistice semnificative ( $p < 0,001$ ) la pacienții cu PC comparativ cu GC la toți parametrii.

Toți indicii POL (Tab. 1) s-au dovedit a fi crescuți, statistic semnificativ ( $p < 0,001$ ), la pacienții cu PC vs GC: dienele conjugate faza hexanică- de 1,35 ori ( $15,54 \pm 0,29$  vs  $11,44 \pm 0,09$  uc/ml), trienele conjugate faza hexanică- de 1,60 ori ( $5,81 \pm 0,24$  vs  $3,63 \pm 0,24$  uc/ml), bazele Shiff faza hexanică- de 2,54 ori ( $3,20 \pm 0,27$  vs  $1,26 \pm 0,05$  uc/ml), dienele conjugate faza izopropanolică- de 1,22 ori ( $13,76 \pm 0,18$  vs  $11,29 \pm 0,08$  uc/ml), trienele conjugate faza izopropanolică - de 1,29 ori ( $7,53 \pm 0,21$  vs  $5,84 \pm 0,05$  uc/ml), bazele Shiff faza izopropanolică - de 1,85 ori ( $2,04 \pm 0,19$  vs  $1,10 \pm 0,03$  uc/ml), DAM- de 1,28 ori ( $21,36 \pm 0,61$  vs  $16,75 \pm 0,24$  uc/ml). Se observă o creș-

Tabelul 1

**Indicii POL la pacienții cu pancreatită cronică vs grupul de control**

Indicele evaluat	Grupul de control		Pacienți cu PC		p
	Nr.	M±m	Nr.	M±m	
HPL-timp.hexan (diene conjugate), uc/ml	100	11.44±0.09	100	15.54±0.29	<0.001
HPL-inter.hexan (triene conjugate), uc/ml	100	3.63±0.08	100	5.81±0.24	<0.001
HPL-tardivi hexan (baze Shiff), uc/ml	100	1.26±0.05	100	3.20±0.27	<0.001
HPL-timp.izopr., (diene conjugate), uc/ml	100	11.29±0.08	100	13.76±0.18	<0.001
HPL-inter.izopr., (triene conjugate), uc/ml	100	5.84 ±0.05	100	7.53±0.21	<0.001
HPL-tardivi izopr. (baze Shiff), uc/ml	100	1.10±0.03	100	2.04±0.19	<0.001

Tabelul 2

**Indicii SAO la pacienții cu pancreatită cronică vs grupul de control**

Indicele evaluat	Grupul de control		Pacienți cu PC		p
	Nr.	M±m	Nr.	M±m	
DAM, μM/s.l	100	16.75±0.24	100	21.36±0.61	<0.001
AAT-hexan., mMDPPH/s.l	100	10.81±0.19	100	7.38±0.20	<0.001
AAT-izopr., mMDPPH/s.l	100	11.17±0.23	100	6.77±0.23	<0.001
SOD, u/c	100	1474.35±18.67	100	1257.17±18.28	<0.001
Catalaza, μM/s.l	100	13.73±0.38	100	8.88±0.32	<0.001
GR, μM/s.l	100	6.52±0.10	100	4.15±0.08	<0.001

tere preponderentă a dieneilor, trienelor conjugate, bazelor Shiff în faza hexanică.

Evaluarea SAO (Tab. 2.) a demonstrat parametri scăzuți la pacienții cu PC vs GC: AAT faza hexanică - de 1,46 ori (7,38±0,20 vs 10,81±0,19 mMDPPH/s.l), AAT faza izopropanolică - de 1,65 ori (6,77±0,23 vs 11,17±0,23 mMDPPH/s.l), SOD- de 1,17 ori (1257,17±18,28 vs 1474,35±18,67 u/c), Catalaza- de 1,54 ori (8,88±0,32 vs 13,73±0,38 μM/s.l), GR- de 1,57 ori (4,15±0,08 vs 6,52±0,10 μM/s.l).

Analiza valorilor medii ale indicilor POL și a activității SAO la pacienții cu diferite forme clinice de PC a evidențiat modificări mai semnificative la pacienții cu PCPsT. Valori medii crescute ale indicilor POL (Tab. 3): dienele conjugate faza hexanică- de 1,21 ori în PCPsT vs PCL, p<0,001 și de 1,11 ori vs PCR, p<0,001 (17,39±0,49 vs 14,34±0,49 și 15,70±0,41 uc/ml), PCR/PCL - p <0,05; trienele conjugate faza hexanică - de 1,31 ori în PCPsT vs PCL, p<0,01 și de 1,009 ori vs PCR, p>0,05 (6,42±0,47 vs 4,89±0,21 și 6,36±0,47 uc/ml), PCR/PCL-p<0,01; dienele conjugate faza izopropanolică- de 1,12 ori în PCPsT vs PCL, p<0,01 și de 1,10 ori vs PCR, p<0,01, (14,95±0,38 vs 13,36±0,24 și 13,57±0,30 uc/ml), PCR/PCL -p >0,05; trienele conjugate faza izopropanolică - de 1,25 ori în PCPsT vs PCL, p<0,05 și de 1,10 ori vs PCR, p>0,05, (8,53±0,67 vs 6,80±0,18 și 7,70±0,33 uc/ml), PCR/PCL -p <0,05. Nivelul bazelor Shiff faza izopropanolică a fost mai crescut în PCR- de 1,49 ori vs PCL, p>0,05 și de 1,16 vs PCPsT, p>0,05, (2,42±0,44 vs 1,62±0,06 și 2,09±0,19 uc/ml), PCL/PCPsT- p <0,05.

În cele 3 grupuri de pacienți cu PC nu s-a observat o diferență statistic semnificativă la nivelul DAM: PCPsT vs PCL vs PCR - 24,58±2,25 vs 20,72±0,59 vs 20,31±0,69 μM/s.l și a bazelor Shiff faza hexanică: PCR vs PCPsT și PCL - 3,68±0,55 vs 3,54±0,54 și 2,49±0,25 uc/ml, p >0,05.

Activitatea SAO, ca și indicii POL, a fost mai mult modificată la pacienții cu PCPsT (Tab. 4). Indicii activității SAO scăzuți: Catalaza- de 1,33 ori în PCPsT vs PCL, p<0,01 și de 1,19 ori vs PCR, p<0,05 (7,40±0,47 vs 9,82±0,62 vs 8,77±0,42 uc/ml), PCR/PCL- p >0,05; GR- de 1,19 ori în PCPsT vs PCL, p<0,01 și de 1,14 ori vs PCR, p<0,05 (17,39±0,49 vs 14,34±0,49 vs 15,70±0,41 uc/ml), PCR/PCL- p >0,05; SOD - de 1,10 ori în PCPsT vs PCL, p<0,01 și de 1,06 ori vs PCR, p>0,05 (1181,27±29,40 vs 1302,73±25,92 și 1253,81±33,13 u/c), PCR/PCL- p >0,05. Valorile AAT nu s-au deosebit statistic semnificativ între gupele de pacienți cu diferite forme clinice de PC: AAT fază hexanică mai diminuată la pacienții cu PCPsT- de 1,08 ori vs PCR și de 1,009 ori vs PCL (7,10±0,50 vs 7,70±0,26 și 7,17±0,34 mMDPPH/s.); AAT fază izopropanolică mai scăzută la pacienții cu PCR- de 1,09 ori vs PCL și de 1,03 ori vs PCPsT (6,51±0,31 vs 7,09±0,46 și 6,71±0,34 mMDPPH/s.).

Deoarece majoritatea pacienților incluși în studiu au remarcat prezența multor factori de risc ambien- tali, SO poate fi în mare parte de origine exogenă și disbalanța sistemului de POL și a SAO la pacienții cu PC ar putea fi explicat prin SO prelungit, datorat consumului cronic de alcool, subnutriție, maldiges- tie, malabsorbție de Vit E, C, deficit de seleniu prin

Tabelul 3

**Indicii POL la pacienții cu diferite forme clinice de PC**

Indicele evaluat	Pacienți cu PCR <sup>(1)</sup> nr.=41	Pacienți cu PCL <sup>(2)</sup> nr.=38	Pacienți cu PCPsT <sup>(3)</sup> nr.=21
	M±m	M±m	M±m
HPL-timp. hexan (diene conjugate), uc/ml	15,70±0,41	14,34±0,49	17,39±0,49
	p <sub>1,2</sub> < 0,05	p <sub>1,3</sub> < 0,01	p <sub>2,3</sub> < 0,001
HPL-inter.hexan (triene conjugate), uc/ml	6,36±0,47	4,89±0,21	6,42±0,47
	p <sub>1,2</sub> < 0,01	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,01
HPL-tardivi hexan. (baze Shiff), uc/ml	3,68±0,55	2,49±0,25	3,54±0,54
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> > 0,05
HPL-timp. izopr. (diene conjugate) uc/ml	13,57±0,30	13,36±0,24	14,95±0,38
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> < 0,01	p <sub>2,3</sub> < 0,01
HPL-inter. izopr. (triene conjugate), uc/ml	7,70±0,33	6,80±0,18	8,53±0,67
	p <sub>1,2</sub> < 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,05
HPL-tardivi izopr. (baze Shiff), uc/ml	2,42±0,44	1,62±0,06	2,09±0,19
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,05
DAM, µM/s.l	20,31±0,69	20,72±0,59	24,58±2,25
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> > 0,05

Legendă: p<sub>1,2</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCR și PCL  
p<sub>1,3</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCR și PCPsT  
p<sub>2,3</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCL și PCPsT

Tabelul 4

**Indicii SAO la pacienții cu diferite forme clinice de PC**

Indicele evaluat	Pacienți cu PCR <sup>(1)</sup> nr.=41	Pacienți cu PCL <sup>(2)</sup> nr. =38	Pacienți cu PCPsT <sup>(3)</sup> nr.=21
	M±m	M±m	M±m
AAT-hexan, mMDPPH/s.l	7,70±0,26	7,17±0,34	7,10±0,50
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> > 0,05
AAT-izopr. mMDPPH/s.l	6,51±0,31	7,09±0,46	6,71±0,34
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> > 0,05
SOD, u/c	1253,81±33,13	1302,73±25,92	1181,27±29,40
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> > 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,01
Catalaza, µM/s.l	8,77±0,42	9,82±0,62	7,40±0,47
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> < 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,01
GR, µM/s.l	4,19±0,14	4,37±0,09	3,67±0,20
	p <sub>1,2</sub> > 0,05	p <sub>1,3</sub> < 0,05	p <sub>2,3</sub> < 0,01

Legendă: p<sub>1,2</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCR și PCL  
p<sub>1,3</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCR și PCPsT  
p<sub>2,3</sub>- diferențe statistice între pacienții cu PCL și PCPsT

necesități crescute, datorate consumului de etanol (Van Gossum s.c.1996), factorilor nocivi din fumul de țigară ș.a. PC pseudotumorală, fiind caracterizată print-o clinică și complicații mai severe, inclusiv și intervenții chirurgicale, explică parametrii SO mai exprimați comparativ cu alte forme de PC. Dar interacțiunea diferitor factori exogeni și endogeni în declanșarea și susținerea SO în PC necesită o studiere mai amplă.

**Concluzii:**

1. Rezultatele studiului au demonstrat o diferență statistic semnificativă (p<0.001) între pacienții cu PC și GC, exprimată prin creșterea valorilor indicilor POL și scăderea activității SAO la nivelul tuturor parametrilor.

2. Modificări mai semnificative ale valorilor medii ale indicilor POL și a activității SAO s-au evidențiat la pacienții cu PCPsT, fiind exprimate prin valori

crescute ale indicilor POL (dienele conjugate faza hexanică și izopropanolică, trienele conjugate faza hexanică și izopropanolică) și scăderea activității SAO (Catalaza, GR, SOD).

### Bibliografie

1. Altomare E. et al. *Acute ethanol administration induces oxidative changes in rat pancreatic tissue*. Gut 38: 1996, p. 742-746.
2. Aruoma O.I. *Free radicals and antioxidant strategies in sports*. J NutrBiochem, 1994, p. 5370-379.
3. Bast A., Haenen GRMM, Doelman CJA. *Oxidants and antioxidants: state of the art*. Am. J. Med. 1991; 91 (suppl.30), p. 29-135.
4. Basso D., Panozzo M.P., Fabris C., del Favero G., Meggiato T., P. Fogar, Meani A., Faggian D., Plebani M., Burlina A. *Oxygen derived free radicals in patients with chronic pancreatic and other digestive diseases*. J Clin Pathol. 1990; May, 43(5), p. 403-405.
5. Dejica D. *Stresul oxidativ în bolile interne*. București, 2000; 500 p.
6. *Exploring Oxidative stress and Nitrosative Stress with Oxisresearch*. [http://www.oxisresearch.com/oxidative\\_stress-complete](http://www.oxisresearch.com/oxidative_stress-complete).
7. Garg P.K. *Antioxidants for Chronic Pancreatitis: Reasons for Disappointing Results Despite Sound Principles*. Gastroenterology, 2013, vol 144(3)3, p. e19-e20.
8. Hacket T., Werner J. *Antioxidant therapy in acute pancreatitis: experimental and clinical evidence*. Antioxidants & Redox Signaling. 2011;15(10), p. 2767-77.
9. Monfared SSMS, Vahidi ah, Abdolghaffari A.H., Shekoufeh Nikfar, Abdollahi M. *Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERSP pancreatitis: A systemic review*. World J Gastroenterol, 2009, sept.28: 15 (36), p. 4481-4490.
10. Sies H. *Oxidative stress*. London, Academic Press. 1985. p1.
11. Sliwińska-Mossoń M., Milnerowicz H., Jabłonowska M., et. al. *The effect of smoking on expression of IL-6 and antioxidants in pancreatic fluids and tissues in patients with chronic pancreatitis*. Pancreatology. 2012 Jul-Aug;12(4), p.295-304.
12. Srinivasan P., Subramanian V.S., Said H.M. *Effect of the cigarette smoke component, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), on physiological and molecular parameters of thiamin uptake by pancreatic acinar cells*. PLoS One. 2013 Nov 7;8(11):e78853.
13. Tache S. *Stresul oxidativ*. În: Dejica D. *Stresul oxidativ în bolile interne*. 2000; p. 77-130.